

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. H.-B. Wuermeling

Untersuchungen zur Erfassung
von Barbituraten, Amphetaminen und
Salizylaten aus Mageninhalt mittels
neuer Teststäbchen

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Theresia Böhm
aus Treublitz

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. H.-B. Wuermeling

Untersuchungen zur Erfassung von Barbituraten, Amphetaminen und Salizylaten aus Mageninhalt mittels neuer Teststäbchen

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Theresia Böhm
aus Treublitz

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. E. Rügheimer

Referent: Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher von Mallinckrodt

Korreferent: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling

Tag der mündlichen Prüfung: 03. Februar 1977

I.	EINLEITUNG	1
	Allgemeines über Vergiftungen unter besonderer Berücksichtigung der untersuchten Pharmaka	
1.	Barbiturate	1
2.	Salizylate	3
3.	Amphetamine	4
II.	PROBLEMSTELLUNG	5
III.	REAKTIONSPRINZIP DER VERWENDETEN TESTSTÄBCHEN	8
1.	Barbiturate: Reaktion nach Zwikker	8
2.	Salizylate: Reaktion nach Trinder	10
3.	Amphetamine: Reaktion nach Marquis	11
IV.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN MIT MAGENINHALT	12
1.	Methode zur qualitativen Bestimmung der genannten Substanzen aus Mageninhalt	
a)	Extraktion	12
α)	aus saurem Milieu für Barbiturate und Salizylate	12
β)	aus alkalischem Milieu für Amphetamine	13
b)	Nachweis durch Teststäbchen	14
α)	Barbiturate	14
β)	Salizylate	15
γ)	Amphetamine	16
c)	Leerextraktion zur Fettbestimmung	17
2.	Dünnschichtchromatographie und quantitative Auswertung mit dem UV-Spektrophotometer	18
a)	Barbiturate und Salizylate	18
b)	Amphetamine	19
3.	Ergebnisse	22
a)	Barbiturate	22
b)	Salizylate	24
c)	Amphetamine	24
V.	DISKUSSION UND ZUSAMMENFASSUNG	27
VI.	LITERATURVERZEICHNIS	29



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. Einleitung:

Ursachen für Vergiftungen können Suizidversuche, Unfälle und kriminelle Handlungen sein. Den Hauptanteil machen Suizidversuche und Unfälle bei Kindern aus. Fast die Hälfte aller tödlichen Unfälle bei Kindern im Alter von 1 - 3 Jahren werden in den USA durch Vergiftungen verursacht, wobei Aspirin und Barbiturate an erster Stelle stehen. Bei 1- bis 3jährigen Kleinkindern ist eventuell schon eine Dosis von 1 - 2 dieser Tabletten tödlich. Während früher häufig Suizide mit den mehr qualvollen Mitteln wie Säuren, Laugen, Lysol usw. verübt wurden, ist heute in den meisten Ländern eine Verschiebung auf die als "angenehmer" empfundenen Schlafmittel und Psychopharmaka eingetreten.

1. BARBITURATE

Da Barbiturate leicht zugänglich sind, stellen sie auch bei Selbstmordversuchen eine häufige Vergiftungsquelle dar. Eine weitere Ursache für das Zunehmen von Barbituratvergiftungen ist der ansteigende Schlafmittelkonsum in den zivilisierten Ländern. Auch der Verbrauch der in immer größerem Maße auf dem Markt erscheinenden Kombinationspräparate ist an der Zunahme der Vergiftungshäufigkeit beteiligt. Auch sonst ungefährliche Schlafmitteldosen können zu tödlichen Vergiftungen führen, wenn sie mit Alkohol kombiniert werden (als Beispiel sei erwähnt eine Einnahme von vier Schlaftabletten plus dem Inhalt einer 3/4 Whiskyflasche), da gleichzeitig angewandte narkotische oder zentral toxische Mittel mit den Schlafmitteln eine überadditive Wirkung zeigen (Moeschlin 1964).

Bei Süchtigen wird dieser Kombinationseffekt absichtlich ausgenutzt. So wird, wenn Opiate Mangelware sind, die Kombination Barbiturate plus Alkohol als Ersatz verwendet (Devenyi und Wilson 1971).

Typische Symptome der Barbituratvergiftung sind Bewusstlosigkeit, zentrale Atemhemmung mit O_2 - Mangelsymptomen, ein Kreislaufversagen im letzten Stadium der Vergiftung, sekundär eine Beeinflussung anderer Körperfunktionen, wie die meist eingeschränkte Nierenfunktion oder die abfallende Körpertemperatur.

Die tödliche Dosis (bei unbehandelten Patienten) schwankt individuell sehr stark. Gefährlich sind die langsam eliminierten Mittel wie Veronal (LD = 6 - 8 g), Luminal (LD = 4 - 6 g). Relativ weniger gefährlich sind das rasch eliminierte Medomin (LD = 20 g $\hat{=}$ 80 Tabletten) und Evipan.

Heute verläuft bei therapeutischem Eingreifen auch eine schwere Schlafmittelvergiftung nur ausnahmsweise tödlich. Die Mortalität beträgt 2,3 Prozent in der Schweiz, 2,5 Prozent in Kanada und 1,6 Prozent in Dänemark.

"Suizidversuche mit Schlafmitteln sind heute die angenehmste, aber auch die unsicherste Art aus dem Leben zu scheiden" (Moeschlin 1964).

2. SALIZYLATE

Die meisten Vergiftungen durch Salizylsäurederivate kommen bei uns in suizidaler Absicht zustande. Zu vielen tödlichen Vergiftungen bei Kindern führten in den USA die Aspirin-dragees, da diese durch ihren Zuckerüberzug und die leuchtenden Farben besonders anziehend für Kinder sind.

Die tödliche Dosis beträgt beim Erwachsenen peroral mindestens 30 - 40 g, gewöhnlich allerdings mehr. Die Mortalität steht bei 50 Prozent (Moeschlin 1964). Durch Reizung des Atemzentrums wird Hyperventilation ausgelöst und vermehrt CO_2 abgeatmet. Der pH-Wert des Blutes steigt an; es kommt zur Alkalose, einem Exzitationsstadium, Bewußtseinsverlust, Dyspnoe und Tod an zentraler Atemlähmung (Kuschinsky 1972). Angegeben werden auch Blutungen durch Senkung des Prothrombinspiegels, Thrombozytopenie und Kapillarschädigungen. Bei langdauernder Acetylsalizylsäuretherapie können Magenblutungen auftreten (Stubbe 1957). Nahe bei toxischen Werten liegen die notwendigen hohen Dosen bei der Rheumatherapie. Bei besonderer Empfindlichkeit werden sie sogar erreicht (Cooper 1962).

Außerdem werden Salizylate leicht durch die Haut resorbiert. Beim Einreiben von großen Flächen mit Salizylsäurepräparaten besteht deshalb auch hier die Gefahr der Aufnahme von toxischen Mengen (Anonymus 1964).

3. AMPHETAMINE

Deutlich ist in letzter Zeit auch der Mißbrauch von Amphetaminen gestiegen, nicht nur seine Verwendung als Aufputzmittel bei sportlichen Leistungen und als sexuelles Anregungsmittel. Die Amphetamine zählen zu den häufigsten Dopemitteln. Da durch sie normale Ermüdungserscheinungen aufgehoben werden, kommt es zu einer Überlastung des Herzens und der Kreislauforgane. Die Folge ist bei chronischem Mißbrauch eine erheblich verkürzte Lebenserwartung.

In Kombination mit anderen Effektoren wie Erschöpfungszuständen, starker Hitze, organischen Krankheiten dürften Amphetamine die Ursache für die plötzlichen Todesfälle bei gedopten jungen Sportlern sein. Beispiele sind

- a) ein 18jähriger körperlich sehr gut entwickelter Fußballer, der während eines Fußballspiels starb
- b) ein 23jähriger Radsportler, der zwei Tage nach einem Wettkampf verstarb

Beide Männer waren organisch gesund. Der Tod trat wohl durch Kombinationswirkung von extremer Belastung und Amphetamin-aufnahme ein (Yacoub et al. 1970). Da Amphetamine das Leistungsgefühl steigern und euphorisch wirken, führen sie oft zu einer eigentlichen Sucht. Dies gilt auch für zahlreiche unter ärztlicher Kontrolle relativ harmlose Derivate, die als Appetitzügler in Gebrauch sind.

Akute Vergiftungen durch einmalige Überdosierung oder in suizidaler Absicht sind selten. Die tödliche Dosis beträgt 5 mg/kg bei Kindern und 20 mg/kg bei Erwachsenen.

II. Problemstellung:

Zur Diagnose einer Vergiftung wird von vielen Klinikern heute der Giftnachweis als unerlässlich gefordert. Der schnelle Nachweis oder der Ausschluß des klinisch vermuteten Giftes ist die erste Aufgabe der chemisch-toxikologischen Untersuchung im akuten Fall. Deshalb muß angestrebt werden, zunächst mit einfachen Suchtests, die rasch durchführbar sind, einen Hinweis für Diagnose und Therapie zu geben. Sinnvoll wäre es, Schnellreaktionen in der Reihenfolge der Häufigkeit der für Vergiftungen verantwortlichen Gifte zu entwickeln. Dabei sollten die Verfahren nicht nur für aufgefundene Tablettenreste, sondern auch die wichtigsten Asservate wie Magenspülflüssigkeit, Urin und Blut brauchbar sein.) Eine solche Entwicklung zeichnet sich ab. Beispiele sind die Teststreifen zur Prüfung des Urin-pH-Wertes, ebenso die Streifen zur Prüfung auf Nitrit im Urin, die ursprünglich der Erkennung von Harnwegsinfektionen dienten, sowie der Rauschgifttest der Fa. Merck. Ein weiterer Beitrag sollen die neuentwickelten Teststäbchen der Fa. Merck zur Prüfung auf Barbiturate, Amphetamine und Salizylate sein.

Schwertsik untersuchte (1974) die Teststäbchen für Barbiturate und Amphetamine auf ihre Spezifität und bestimmte ihre Nachweisgrenzen. Für die Salizylatstäbchen stellte Stöckl (1974) eine Farbskala auf und bestimmte die Nachweisgrenzen in wässrigen Lösungen, Urin und Plasma.

Die Teststäbchen können allerdings nicht verwendet werden, indem sie direkt in Mageninhalt gehalten werden, da Fremdstoffe und Eigenfärbung des Mageninhalts die Reaktion der Stäbchen beeinträchtigen würden. Außerdem muß die Substanz, um in den Erfassungsbereich der Stäbchen zu gelangen, oft konzentriert werden. Lediglich die Salizylatstäbchen sind in allen biologischen Materialien anwendbar.

Als Methode zur schnellen Anreicherung von Barbituraten, Amphetaminen und Salizylaten aus Mageninhalt nennt Clarke (1969) die Extraktion. Barbiturate bestimmt er aus den sauren Ätherextrakten und Amphetamine aus den alkalischen Chloroformextrakten.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit ist es, zu prüfen, ob Teststäbchen auch nach Extraktion der jeweiligen Wirkstoffe aus Mageninhalten positiv reagieren.

Geprüft werden im einzelnen:

LARBITURATE

1. Evipan = Hexobarbital = 5-(1-Cyclohexenyl)-1,5-dimethyl-barbitursäure
2. Luminal = Phenobarbital = 5 Äthyl -5- (1-methyl-butyl) barbitursäure
3. Medomin = Heptabarbitum = 5-Äthyl-5-isobutylbarbitursäure
4. Tempidorm = Ca-salz der 5-Amyl-5- allylbarbitursäure
5. Vesperone = Brallobarbitat = 5-Allyl-5-(2-bromallyl) barbitursäure

SALICYLATE

Aspirin = Acetylsalicylsäure

AMPHETAMINE

1. AN 1 = Aponeuron = α -(α -Methylphenäthylamino)- α -phenylacetonitril
2. Benzedrinsulfat = Amphetaminsulfat = DL-Methylphen-äthylaminsulfat
3. Pervitin = Methamphetamin = (+)-N- α -Dimethylphen-äthylamin
4. Ritalin = Methylphenidathydrochlorid = Phenyl (2-piperidyl)-essigsäuremethylester

III. Reaktionsprinzip der verwendeten Teststäbchen

1. BARBITURAT-TESTSTÄBCHEN (Merck):

Der Test beruht auf einer Zwikker-Reaktion, die eine Farbreaktion der Barbiturate mit einem Kupfer-Pyridin-Reagenz darstellt.

Reagenz nach Zwikker (1931): 4 ml einer 10prozentigen wässrigen Kupfersulfatlösung, 1 ml Pyridin und 5 ml H₂O ergeben eine haltbare, klare, dunkelblau gefärbte Lösung. Die Zwikker-Reaktion ist eine Probe auf die Barbituratgruppe und einige wenige gleichartig reagierende Substanzen. Sie erlaubt neben dem Barbituratnachweis auch eine Unterscheidung zwischen Barbituraten und Thiobarbituraten, da die Barbiturate rotviolett und die Thiobarbiturate grün werden (Schmidt 1961). Entsprechend gilt dies auch für die auf dieser Reaktion beruhenden Teststäbchen der Fa. Merck, wie Schwertsik (1974) in seinen Untersuchungen nachgewiesen hat.

Im Kommentar zur British Pharmacopia (Linnell 1953) wird sogar versucht, auf Grund der Farbentwicklung mit Kupfersulfat und Pyridin zwischen mehreren Barbituraten zu unterscheiden: Evipan, Prominal und Diphenylhydantion ergeben einen blauen; Veronal, Tentobarbital, Luminal einen violetten und Thiopental einen grünen Niederschlag. Diesbezügliches findet man auch bei Schwertsik (1974), der in seinen Untersuchungen mit den Teststäbchen der Fa. Merck neben der schon obengenannten Unterscheidung zwischen Barbituraten und Thiobarbituraten noch Diphenylhydantoin nennt, das die Reaktionszone der Stäbchen

blauviolett verfärbt. Er zeigte außerdem, daß auch Salze der Barbitursäure die Reaktionszone des Barbituratteststäbchens violett färben, und weist dies nach für Phenobarbital-Natrium (= Na-Salz der 5-Äthyl-5-Phenylbarbitursäure) und Tempidorm (= Ca-Salz der 5-Amyl-5- β -allylbarbitursäure). Die Nachweisgrenzen betrugen mit Reinsubstanzen 0,2 - 6 mg. Die Stärke der Färbung hängt von der Konzentration des nachzuweisenden Barbiturats ab. Zur Erleichterung der Beurteilung der Nachweisreaktionen hat die Fa. Merck eine Farbskala mit zwei positiven Farbwerten (hell- und dunkelviolett) und einen Farbwert für die negative Reaktion beigegeben. Weiterhin gibt sie den Hinweis, daß die Reaktion nur in nahezu wasserfreiem Medium abläuft.

2. SALIZYLAT-TESTSTÄBCHEN (Merck):

Bei dem Salizylat-Teststäbchen reagiert Salizylsäure mit Eisensalzen unter Bildung eines violett gefärbten Komplexes. Die Fa. Merck hat die chemische Grundlage des Salizylat-Teststäbchens nicht näher beschrieben. Die Reaktion entspricht aber in etwa dem Salizylatnachweis nach Trinder, wie ihn Stöckl (1974) in seiner Dissertation mit biologischen Flüssigkeiten durchgeführt hat. Gemessen werden dabei die Gesamt-Salizylate einschließlich der Stoffwechselprodukte, soweit sie noch die freie Hydroxylgruppe der Salizylsäure enthalten. Stöckl arbeitet auch mit den Salizylat-Teststäbchen der Fa. Merck und stellt eine Farbskala für die verschiedenen Konzentrationen auf. Er verwendet die Teststäbchen für Plasma, Urin und wässrige Lösungen in der Weise, daß sie kurz in die entsprechende Flüssigkeit getaucht werden und nach einigen Sekunden der Grad der Verfärbung mit der Farbskala verglichen wird.

Nicht möglich ist diese einfache praktische Verwendung des Salizylat-Teststäbchens bei der Untersuchung von Mageninhalt aus den vorher auf Seite 6 genannten Gründen. Die Salizylat-Teststäbchen werden ebenso wie die Barbiturat- und Amphetamin-Teststäbchen nur für Extrakte aus Mageninhalt verwendet.

3. AMPHETAMIN-TESTSTÄBCHEN (Merck):

Das Amphetamin-Teststäbchen beruht auf einer modifizierten Marquis-Reaktion. Bei der eigentlichen Marquis'schen Reaktion reagieren Morphinderivate in schwefelsaurem Milieu mit Formaldehyd unter Farbbildung. Schwertsik (1974) prüft daher die Reaktion des Amphetamin-Teststäbchens auch mit Morphinderivaten. Sie verfärben die Reaktionszone des Teststäbchens violett, Opium braun. Die Amphetamine verfärben die Reaktionszone des Amphetamin-Teststäbchens orange. Die Nachweisgrenze liegt zwischen 0,2 - 0,8 mg. Auch hier hängt die Stärke der Färbung von der Konzentration des nachzuweisenden Amphetamins ab, was ebenfalls wieder anhand einer beigegebenen Skala mit zwei positiven und einem negativen Farbwert beurteilt werden kann.

IV. Eigene Untersuchungen mit Mageninhalten

1. Methode zur qualitativen Bestimmung der genannten Substanzen aus Mageninhalt

a) EXTRAKTION

Versuchsablauf:

25 ml Mageninhalt werden mit einer halben, einer bzw. mehrerer mit dem Spatel zerstoßenen Tabletten durch leichtes Schütteln gut gemischt und 24 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Danach wird die dem Mageninhalt hinzugefügte Substanz extrahiert.

- α) Bei Barbituraten und Salizylaten muß im sauren Milieu extrahiert werden.

Der Mageninhalt wird durch Zugabe von Weinsäure auf einen pH-Wert von 3 gebracht (Kontrolle mittels eines Indikatorpapiere). Anschließend wird der jetzt saure Mageninhalt mit dem doppelten Volumen Äther in einem Schütteltrichter durch kräftiges Durchschütteln extrahiert. Das Gemisch trennt sich nach kurzer Zeit in zwei Phasen. Falls sich keine zwei Phasen bilden, wird das Gemisch mit Hilfe der Zentrifuge getrennt. Die untere spezifisch schwerere Phase ist Mageninhalt, die obere spezifisch leichtere Phase der Äther, in dem sich das Barbiturat bzw. Salizylat in gelöster Form befindet. Der Vorgang wird noch einmal wiederholt, um die Extraktion möglichst vollständig zu machen. Die abgetrennten Ätherphasen werden vereinigt und zum Trocknen mit zwei bis mehr Teelöffeln wasserfreiem Natriumsulfat versetzt. Anschließend werden sie zur Reinigung durch einen Papierfilter in eine Schale

gegeben und auf dem Wasserbad erwärmt, bis der Äther vollständig verdunstet ist. Übrig bleibt ein eingetrockneter Rückstand, der Barbiturat bzw. Salizylat und Fett enthält, das gleichfalls mit Äther aus dem Mageninhalt extrahiert wird.

β) Zur Isolierung der Amphetamine muß im basischen Milieu extrahiert werden.

25 ml Mageninhalt, die einen Tag vorher mit einem Amphetaminderivat gemischt wurden, macht man mit gesättigter Na_2CO_3 -Lösung basisch. Danach wird genau wie bei der sauren Extraktion zweimal mit 50 ml Äther das im Mageninhalt vorhandene Amphetamin herausgelöst und anschließend mit Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Filtrieren wird mit einer Tropfpipette tropfenweise methanolische Salzsäure (= 1 ml conc. HCl + 50 ml Methanol) zu der Ätherlösung gegeben, bis ein mit destilliertem Wasser befeuchtetes Indikatorpapier sauer reagiert, damit die Amphetamine nicht flüchtig gehen. Notwendig sind dazu etwa 60 bis 70 Tropfen. Anschließend wird, da Amphetamine bei höheren Temperaturen leichter flüchtig sind, der Äther in der Eindampfschale bei nur 40°C auf dem Wasserbad abgedampft. Der Extraktückstand enthält neben Fett das entsprechende Amphetamin.

b) NACHWEIS DURCH TESTSTÄBCHEN

Nach der Extraktion folgt die eigentliche qualitative Prüfung der aus dem Mageninhalt erhaltenen Extrakte. Zu diesem Zweck werden bei dieser Arbeit erstmalig die genannten, von der Fa. Merck entwickelten Teststäbchen verwendet.

α) Nachweis von Barbiturat mit dem Barbiturat-Teststäbchen

Vor Verwendung der Barbiturat-Teststäbchen muß geprüft werden, welcher Farbwert sich allein mit dem Barbiturat-Lösungsmittel ergibt. Man geht so vor, daß man das Barbiturat-Teststäbchen in ein paar Tropfen des reinen Barbiturat-Lösungsmittels taucht. Die Farbe der Reaktionszone bleibt so unverändert.

Versuchsablauf:

Die aus dem Mageninhalt gewonnenen Extraktreste werden in 1 - 2 ml 95prozentigem Alkohol gelöst. Dieser Lösung werden 0,1 ml entnommen, in eine Vertiefung einer Tüpfelplatte getropft und das Lösungsmittel vorsichtig verdampft. Dann gibt man 10 Tropfen des Barbiturat-Lösungsmittels hinzu und bringt durch kurzes Rühren mit dem Spatel die angetrocknete Probe weitgehend in Lösung. Nach 5 Minuten wird das Barbiturat-Teststäbchen kurz mit der gesamten Reaktionszone in die Lösung getaucht und wieder herausgenommen. 5 Sekunden später wird die Färbung der Reaktionszone - bei Barbituraten violett - mit einer mitgelieferten Farbskala verglichen. Später auftretende Färbungen bleiben unberücksichtigt. Da auch der extrahierte

Rückstand vom Mageninhalt etwas verfärbt ist, kann der negative Farbwert - hier fast weiß bis leicht rosa - durch die Färbung des Mageninhalts übertönt werden. Die positive Farbreaktion bleibt jedoch dieselbe wie angegeben, wenn mindestens die entsprechende Minimalmenge (siehe Grenzwerte Seite 24) von dem jeweiligen Barbiturat den 25 ml Mageninhalt hinzugefügt werden. (Ausnahme Evipan)

B) Nachweis von Salizylat mit dem Salizylat-Teststäbchen

Da kein eigenes Lösungsmittel zur Verfügung steht, wird der Test mit $n/10$ -HCl-Lösung durchgeführt.

Vor Verwendung der Salizylat-Teststäbchen muß geprüft werden, welcher Farbwert sich allein mit der $n/10$ -HCl-Lösung ergibt.

Man taucht ein Salizylat-Teststäbchen in ein paar Tropfen reine $n/10$ HCl und beobachtet die Reaktionszone des Stäbchens. Sie bleibt unverändert.

Versuchsablauf:

Der eingedampfte Extraktionsrückstand wird mit 1 - 2 ml 95prozentigem Äthanol weitgehend gelöst; davon tropft man 0,1 ml in eine Vertiefung der Tüpfelplatte und läßt sie eintrocknen. Nach dem Eintrocknen wird die Probe in 10 Tropfen $n/10$ HCl mit dem Spatel verrührt. Das Salizylat-Teststäbchen wird kurz mit der gesamten Reaktionszone in die Lösung getaucht. Bei einer positiven Reaktion färbt sich die Reaktionszone sofort violett.

f) Nachweis von Amphetamin mit dem Amphetamin-
Teststäbchen

Vor Verwendung der Amphetamin-Teststäbchen wird wieder geprüft, welcher Farbwert sich allein mit dem Amphetamin-Lösungsmittel ergibt. Man geht so vor, daß man das Amphetamin-Teststäbchen in ein paar Tropfen des reinen Amphetamin-Lösungsmittels taucht. Die Farbe der Reaktionszone bleibt unverändert.

Versuchsablauf:

Das aus dem Mageninhalt extrahierte Amphetamin wird in der Eindampfschale mit 1 - 2 ml 95prozentigem Alkohol (je nach Menge und Konsistenz des Rückstandes) gelöst. Ebenso wie bei den Barbituraten werden dieser Lösung 0,1 ml entnommen, auf eine Tüpfelplatte getropft und eingetrocknet. Mit 10 Tropfen des Amphetamin-Lösungsmittels wird diese Probe mit dem Spatel gut verrührt. Das Amphetamin-Teststäbchen wird 5 Minuten später kurz mit seiner ganzen Reaktionszone in die Lösung getaucht und wieder herausgenommen. Nach 15 Sekunden wird die Färbung der Reaktionszone - bei Amphetaminen orange bis rotorange - mit einer mitgelieferten Farbskala verglichen. Später auftretende Verfärbungen bleiben unberücksichtigt.

c) LEEREXTRAKTION ZUR FETTBESTIMMUNG

Um den Fettgehalt zu bestimmen, werden je 25 ml der für die Versuche zur Verfügung stehenden ersten vier verschiedenen Mageninhalte ohne zugegebene Substanzen im saueren Milieu extrahiert, wie vorher beschrieben, und der Rückstand ausgewogen.

Ergebnis:

Fettgehalt von 1. Magenspülflüssigkeit	=	0,0 mg
2. dünnflüssigem Mageninhalt	=	433,4 mg
3. normalem "	=	330,1 mg
4. dickflüssigem "	=	510,9 mg

Eine Prüfung der verschiedenen Leerproben mit den Teststäbchen ergibt, in gleicher Weise durchgeführt wie bei der Prüfung auf Barbiturat bzw. Salizylat und Amphetamin, jedesmal eine negative Reaktion, was zeigt, daß:

1. in den Mageninhalten kein die Testreaktion störendes Barbiturat bzw. Salizylat oder Amphetamin in nachweisbarer Menge enthalten ist und
 2. das mitextrahierte Fett die Reaktionszone am Stäbchen farblich nicht wesentlich verändert.
- (siehe dazu Seite 15 oben)

2. Dünnschichtchromatographie und quantitative Auswertung mittels UV-Spektrophotometrie

Um das aus dem Mageninhalt extrahierte Barbiturat, Salizylat bzw. Amphetamin auch quantitativ zu erfassen, wird der Extrakt aus den mit bekannten Mengen von Barbiturat, Salizylat bzw. Amphetamin versetzten Mageninhalten dünnschichtchromatographisch aufgetrennt und anschließend UV-spektrometrisch untersucht. Auf diese Weise kann bestimmt werden, wieviel von der dem Mageninhalt beigefügten Substanz nach 24 stündigem Kontakt und nachfolgender Extraktion wiedergefunden wird, denn nur diese Menge kann der Reaktion mit den Teststäbchen zugeführt werden.

a) BARBITURAT UND SALIZYLAT

Versuchsablauf:

Aus dem in 1 - 2 ml 95prozentigem Alkohol gelösten Rückstand der sauren Extraktion werden 0,05 ml entnommen und auf die Startlinie einer DC-Kieselgelplatte mehrfach aufgetragen. Der Alkohol soll beim Auftragen durch Zuhilfenahme eines Föhns rasch verdunsten, damit der Startpunkt in seiner Ausdehnung möglichst klein gehalten wird. Als Laufmittel dient Äther, als Vergleichssubstanz Luminal. Nach Betrachten der Fraktionen im UV-Licht wird der Bereich über einem Startfleck mit Quecksilber-I-nitrat bzw. Eisen-III-chlorid angefärbt. Barbiturate liefern durch die Bildung eines Quecksilber-Barbiturat-Komplexes eine Schwarzfärbung, Salizylate durch Chelatbildung mit Fe-III eine violette Färbung.

Nach Abschaben der entsprechenden, nicht besprühten Fraktionen von der DC-Platte wird die fragliche Substanz mit Borat-Puffer von pH 10 in einem Zentrifugenglas 15 Minuten lang eluiert und anschließend das Kieselgel durch kurzes Zentrifugieren sedimentiert. Mit Boratpuffer als Vergleichslösung kann von dem in Quarzküvetten gefüllten Überstand (eventuell verdünnt mit Boratpuffer) die Absorptionskurve im Spektrophotometer zwischen 360 - 220nm aufgenommen werden. Die so gewonnenen Absorptionskurven werden der quantitativen Auswertung anhand einer Eichkurve zugrundegelegt.

b) AMPHETAMINE

Versuchsablauf:

Der alkalische Extrakt wird in 1 - 2 ml 95prozentigem Alkohol gelöst. Davon werden 0,05 ml entnommen und auf die Startlinie der DC-Kieselgelplatte mehrfach aufgetragen und mit einem Föhn getrocknet. Aufgetrennt wird mit einem basischen Laufmittelgemisch, nämlich
Methanol : konz. Ammoniak = 100 : 0,5

Beim Betrachten der Fraktionen in UV-Licht werden diese auf der DC-Platte markiert und anschließend mit einem Spatel abgeschabt. In einem Zentrifugenglas wird die abgekratzte Substanz mit 5 ml 0,5 n Schwefelsäure 15 Minuten lang eluiert und anschließend durch 5 Minuten dauerndes Zentrifugieren sedimentiert. Der Überstand wird in eine Quarzküvette gefüllt und mit 0,5 n Schwefelsäure als Vergleichslösung spektrophotometrisch zwischen 360 und 220 nm untersucht.

In der folgenden Tabelle sind die Ergebnisse der quantitativen Extraktionsversuche zusammengestellt:

Tabelle 1:

Quantitative Angaben zum extrahierten Anteil der zugesetzten Barbiturate, Salizylate und Amphetamine bei verschiedenen Mageninhalten

BARBITURAT	Konsistenz des Mageninhalts	zugesetzte Menge des Medikaments (in mg)	extrahierte Menge (in mg)	Anteil der extrahierten an der zugesetzten Menge (in %)
Evipan	normal	250	17,60	7,0
	dickfl.	375	17,30	4,6
Luminal	normal	300	175,00	58,3
Medomin	normal	200	46,40	23,2
	dickfl.	300	37,45	12,5
Vesperone	normal	150	23,20	15,5

SALIZYLAT				
Aspirin	normal	500	17,40	3,5

AMPHETAMIN				
AN 1	normal	10	Spur mit Max 257	
Benzedrin-sulfat	normal	50	Spur mit Max 261	
Pervitin	normal	30	--	--
Ritalin	normal	50	--	--

Als Erläuterung zu den Amphetaminen der Tabelle 1 ist folgendes anzuführen:

Bei AN 1 und Benzedrinsulfat kann UV-spektrometrisch eine geringe extrahierte Menge festgestellt werden. Es werden geringe Absorptionen bei 257 und 261 nm erhalten. Eine Auswertung dieser minimalen Absorption erscheint nicht sinnvoll.

3. Ergebnisse der Reaktionen mit den Teststäbchen:

Nur die Versuche für Luminal und Medomin werden mit vier verschiedenen Mageninhalt durchgeföhrt. Bei allen übrigen Versuchen wird nur mit normal konsistenten Mageninhalt gearbeitet.

a) VERSUCHE MIT BARBITURAT-TESTSTÄBCHEN

Die Barbituratstäbchen reagieren nach Aufarbeitung wie auf Seite 14 beschrieben bei

- | | |
|---|-----------|
| 1 Tabl. Evipan = 0,250 g in 25 ml normalem Mageninh. | negativ |
| 1,5 Tabl. Evipan = 0,375 g in 25 ml dickfl. Mageninh. | negativ |
| 2 Tabl. Evipan = 0,500 g in 25 ml dickfl. Mageninh. | pos./neg. |
| 3 Tabl. Evipan = 0,750 g in 25 ml normalem Mageninh. | pos./neg. |
| 4 Tabl. Evipan = 1,000 g in 25 ml normalem Mageninh. | pos./neg. |

Bei der Positiv/Negativ-Reaktion verfärbt sich das Barbiturat-Teststäbchen intensiv rosa.

Da der Barbiturattest mit Evipan selbst mit so großen Zusatzmengen wie 1 g nicht deutlich positiv ausfällt, wird der Test mit 1 Tablette = 0,250 g Evipan-Rein-substanz durchgeföhrt. Dabei erhält man eine positive Reaktion. Diese Tatsache erscheint verständlich, da bei Verwendung der Evipantabletten nur 7 % des zugesetzten Wirkstoffes extrahiert werden, wie die DC-Überprüfung zeigt. Bei allen anderen Barbituraten ist der Anteil der extrahierten Menge größer.

Die Barbiturat-Teststäbchen reagieren bei

1/2 Tabl. Luminal = 0,150 g in normalem Mageninh. negativ

1 Tabl. Luminal = 0,300 g in allen 4 Mageninh. positiv

Die Barbiturat-Teststäbchen reagieren bei

1/2 Tabl. Medomin = 0,100 g in Magenspülwasser positiv
in dünnfl. Mageninh. pos./neg.
in normal. Mageninh. negativ
in dickfl. Mageninh. negativ

1 Tabl. Medomin = 0,200 g in normal. Mageninh. negativ

1,5 Tabl. Medomin = 0,300 g in dickfl. Mageninh. negativ

2 Tabl. Medomin = 0,400 g in normal. Mageninh. positiv

Bei der Positiv-Reaktion mit 2 Tabl. Medomin verfärbt sich das Barbiturat-Teststäbchen hellviolett.

Die Barbiturat-Teststäbchen reagieren bei

1/2 Tabl. Tempidorm = 0,100 g in normal. Mageninh. negativ

1 Tabl. Tempidorm = 0,200 g in normal. Mageninh. positiv

Die Barbiturat-Teststäbchen reagieren bei

1/2 Tabl. Vesperone = 0,075 g in normal. Mageninh. negativ

1 Tabl. Vesperone = 0,150 g in normal. Mageninh. positiv

Folgende Grenzwerte werden festgestellt:

Nach Extraktion aus je 25 ml Mageninhalt erfolgt eine eindeutig positive Reaktion für

Vesperone bei 0,15 g = 1 Tablette

Tempidorm bei 0,20 g = 1 Tablette

Luminal bei 0,30 g = 1 Tablette

Medomin bei 0,40 g = 2 Tabletten

Evipan 1,00 g = mehr als 4 Tabletten

b) VERSUCHE MIT SALIZYLAT-TESTSTÄBCHEN

Die Salizylat-Teststäbchen reagieren bei

1 Tablette Aspirin = 0,50 g in normal. Mageninh. positiv

2 Tabletten Aspirin = 1,00 g in normal. Mageninh. positiv

c) VERSUCHE MIT AMPHETAMIN-TESTSTÄBCHEN

Die Amphetamin-Teststäbchen reagieren bei

1 Tablette AN 1 = 10 mg in normalem Mageninh. pos.

Benzedrinsulfat (Pulverform) = 50 mg in normalem Mageninh. pos.

10 Tabletten Pervitin = 30 mg in normalem Mageninh. pos.

5 Tabletten Ritalin = 50 mg in normalem Mageninh. neg.

Bei der Reaktion mit Ritalin verfärbt sich das Amphetamin-Teststäbchen ockergelb. Dabei ist zu beachten, daß Ritalin kein echtes Amphetamin ist, sondern nur ähnliche Wirkungen hat. Bei Schwertsik sind 0,8 mg noch nachweisbar. Er gibt dazu an, daß Ritalin viel langsamer und schwächer reagiert als die anderen untersuchten Weckamine.

Bei der Positivreaktion mit 1 Tablette AN 1 verfärbt sich das Teststäbchen gelb-orange. Bei allen übrigen Reaktionen ist die Verfärbung orange.

In der folgenden Tabelle 2 finden sich die Ergebnisse über die Anwendung von Teststäbchen für Barbiturate, Salizylate und Amphetamine in Extrakten aus Mageninhalt zusammengestellt:

Tabelle 2:

Reaktion von Teststäbchen für Barbiturate, Salizylate
und Amphetamine in Extrakten aus Mageninhalten

Medikament	Anzahl der Tabl. = g	25 ml Mageninhalt			
		normal	dickfl.	dün nfl.	Magenspülwasser
<u>Barbiturate</u>					
Evipan	1 = 0,25 g	-			
	1,5 = 0,375 g		-		
	2 = 0,5 g		+/-		
	3 = 0,75 g	+/-			
	4 = 1 g	+/-			
Luminal	0,5 = 0,15 g	-			
	1 = 0,30 g	+	+	+	+
Medomin	0,5 = 0,10 g	-	-	+/-	+
	1 = 0,20 g	-			
	1,5 = 0,30 g		-		
	2 = 0,40 g	+			
Tempidorm	0,5 = 0,10 g	-			
	1 = 0,20 g	+			
Vesperone	0,5 = 0,075 g	-			
	1 = 0,15 g	+			
<u>Salizylate</u>					
Aspirin	1 = 0,50 g	+			
	2 = 1,00 g	+			
<u>Amphetamine</u>					
AN 1	1 = 10 mg	+			
Benzedrin- sulfat (Pulver)	50 mg	+			
Pervitin	10 = 30 mg	+			
Ritalin	5 = 50 mg	-			

V. Diskussion und Zusammenfassung:

In der vorliegenden Arbeit wird die Brauchbarkeit von neuen Teststäbchen der Fa. Merck für Barbiturat, Salizylat und Amphetamin zum Nachweis aus Mageninhalt untersucht. Durchgeführt werden die Versuche nach Extraktionen der Wirksubstanzen aus jeweils 25 ml Mageninhalt.

Bei den Barbituraten liegt die Nachweisgrenze zwischen 0,2 und 0,4 g. Das entspricht ungefähr einer aufgenommenen Tablettenmenge von 1 - 2 Stück; das ist also durchaus eine therapeutische Dosis. (Schwertsik findet bei seinen Untersuchungen mit den Barbiturat-Teststäbchen für die Reinsubstanz eine Nachweisgrenze von 0,2 - 6 mg) Eine Ausnahme bildet das Hexobarbital (Evipan), das in dieser normalen Dosierung nicht für eine eindeutig positive Reaktion der Teststäbchen ausreicht. Ein Grund hierfür dürfte die im Vergleich zu den übrigen Barbituraten schlechtere Extrahierbarkeit aus Mageninhalt sein. (Schwertsik findet für Evipan eine Nachweisgrenze von 0,8 mg) Bei der quantitativen Bestimmung der aus dem Mageninhalt extrahierten Barbituratenmengen werden recht unterschiedliche Ergebnisse ermittelt. Die Versuche mit Evipan und Medomin (Seite 22) zeigen, daß bei dickflüssigen Mageninhalten nur etwa halb so viel wie bei normalen Mageninhalten extrahiert wird. Als weitere Ursache kann die ungleichmäßige Auflösung der zu Krümeln zerstoßenen Tabletten angesehen werden.

Bei Acetylsalizylsäure ist die Reaktion in einer Konzentration von 0,5 g (= 1 Tablette) eindeutig positiv. Versuche mit geringeren Konzentrationen werden nicht durchgeführt, da

diese für die Praxis irrelevant sind (Stöckl kann in Natriumsalizylsäure/Aqua dest.-Lösungen eine Konzentration von 10 mg/100 ml mit den Salizylat-Teststäbchen gerade noch als positiv nachweisen).

Die Amphetamine lassen sich in einer Menge von 10 - 50 mg eindeutig durch die Teststäbchen nachweisen. Das ist eine relativ geringe Menge, wenn man bedenkt, daß die tödliche Dosis bei den Amphetaminen für Erwachsene 20 mg pro kg Körpergewicht beträgt (Schwertsik findet eine Nachweisgrenze von 0,2 - 0,8 mg). Durch Dünnschichtchromatographie und UV-Spektrometrie werden bei AN 1 und Benzedrinsulfat quantitativ geringe extrahierte Mengen festgestellt. Für Pervitin und Ritalin sind die durch DC ermittelten Extraktionsmengen so gering, daß mit dem Photometer keine Extinktion gemessen werden kann.

Auf Grund dieser Ergebnisse erscheinen die Teststäbchen nicht geeignet als Ersatz für die üblichen genaueren Nachweis- und Analyseverfahren. Als Ausschlußverfahren bei eventueller Aufnahme größerer Mengen der entsprechenden Substanzen können sie jedoch zur Orientierung Verwendung finden, da die Nachweisgrenze bei den angewandten Versuchsbedingungen für alle untersuchten Verbindungen etwa im Bereich einer therapeutischen Aufnahme liegt.

VI. Literaturverzeichnis

1. ANONYMUS
Percutaneous salicylic acid intoxication
J. Amer. med. Ass. 190, 1084 (1964)
2. CLARKE, E.G.C.
Isolation and identification of drugs
The Pharmaceutical Press, London 1969
3. COOPER, P.
Poisoning by drugs and chemicals
2. Auflage Waide, London 1962
4. DEVENYI, P. and WILSON, M.
Barbiturate abuse and addiction and their relationship
to alcohol and alcoholism
Abuse of barbiturates in an alcoholic population
Canadian Medical Association 104, 215 (1971)
5. KUSCHINSKY, G. und LÜLLMANN, H.
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie
5. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1972
6. MOESCHLIN, S.
Klinik und Therapie der Vergiftungen
5. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1972
7. SCHMIDT, G.
Mikrochemische Identifizierung von Barbituraten mit
Zwikkers-Reagenz
Arch. Tox. 19, 49 (1961)
8. SCHWERTSIK, G.
Untersuchungen zu Spezifität und Nachweisgrenzen für die
Erfassung von Barbituraten, Amphetaminen und Heroin mit
neuen Teststäbchen
Dissertation an der Universität Erlangen-Nürnberg 1974

9. STÖCKL, B.
Nachweis von Salizylaten
Dissertation an der Universität Erlangen-Nürnberg 1974
10. STUBBE, L.
Okkultes Blutverlust mit den Faeces infolge der Anwendung der Acetylsalizylsäure
Dissertation an der Universität Leiden 1957
11. YACOB, M.; FAURE, J.; MARKA, M.; FAURE, H. et CAU, G.
La mort du jeune sportif: Rôle éventuel du dopage
à propos de deux cas
Méd. lég. et dommage 3, 275 (1970)

Bei Herrn Prof. Dr. H.-B. Wuermeling, Vorstand des
Instituts für Rechtsmedizin an der Universität
Erlangen-Nürnberg, bedanke ich mich für die Möglichkeit
diese Arbeit experimentell durchführen zu können.

Frau Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher v. Mallinckrodt bin
ich für die Themenstellung und freundliche Beratung
Dank schuldig.

Herrn Dr. A. Zober danke ich für die freundliche Hilfe
in manchen technischen Fragen.

LEBENS LAUF

Ich, Theresia Böhm, wurde am 7. Dezember 1950 als Tochter des Kaufmanns Georg Böhm und seiner Ehefrau Anna Böhm, geborene Forster, in Teublitz geboren.

1957 trat ich in die Volksschule Teublitz ein und besuchte ab 1961 das naturwissenschaftliche Gymnasium in Schwandorf. 1965 wechselte ich auf den neusprachlichen Zweig desselben Gymnasiums über. Die Reifeprüfung legte ich im Juni 1970 mit Erfolg ab.

Mein Studium begann ich an der Universität Regensburg im Wintersemester 1970/71 mit dem Fach Psychologie. Das Studium der Medizin begann ich in dem folgenden Sommersemester 1971 an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen. Die ärztliche Vorprüfung bestand ich im August 1973. Das Staatsexamen schloß ich am 17. Januar 1977 ab.

Erlangen, im Februar 1977

Theresia B ö h m

Copy-Center 2000

852 ERLANGEN · Obere Karlstr. 30
Tel. 09131-26197